

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

 **BLACK BORDERS**

- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS

 **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**

- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## Incubation container for embedding biological samples in paraffin for use in automatic incubating and shaping devices.

**Patent number:** EP0142575  
**Publication date:** 1985-05-29  
**Inventor:** FREIHERR VON GISE HARDO DR MED  
**Applicant:** GISE HARDO DR FREIHERR VON  
**Classification:**  
 - international: G01N1/28  
 - european: G01N1/36  
**Application number:** EP19830111656 19831122  
**Priority number(s):** EP19830111656 19831122

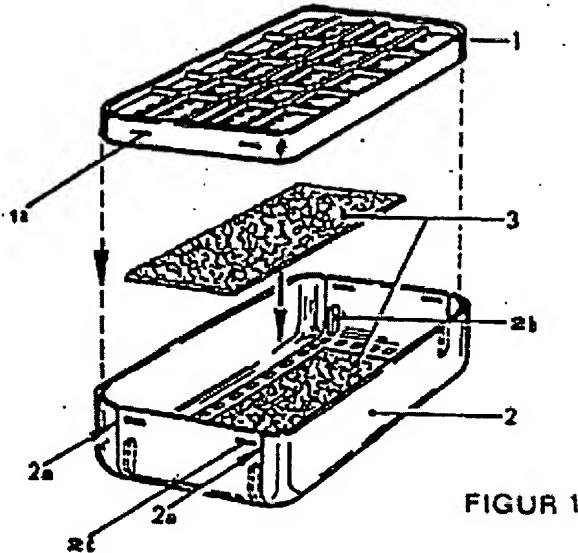
**Cited documents:**

- DE1767660
- US3982862
- US3554433
- US4034884

**Abstract of EP0142575**

The incubation container consists of a perforated shaping frame (1) and an outer trough (2) which is perforated on the base and which has predetermined break lines (2a) for tearing open and abutments (2b) to prevent too deep an engagement of the shaping frame (1). The latter is anchored in the outer trough (2) by means of the beads (1a) which engage in the perforations (2c) of the outer trough (2), in such a way that an unintentional opening is prevented. In an alternative embedding and shaping procedure, an incubation container is used with an outer trough (7) which has no perforations on the base but which has, on the underside of the base, a number of spacing bars which extend in one direction and which, upon tight stacking of the incubation containers, serve as spacing elements with respect to the next incubation container.

The incubation containers are used standing on edge until completion of the infiltration process of the biological tissue and are returned to a horizontal position before solidification of the paraffin, this position preventing the paraffin from flowing out of the outer trough (7) when the paraffin is emptied from the incubation chamber itself.


**FIGUR 1**

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

(11) Veröffentlichungsnummer:

0 142 575  
A1

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 83111656.1

(51) Int. Cl.4: G 01 N 1/28

(22) Anmeldetag: 22.11.83

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
29.05.85 Patentblatt 85/22

(71) Anmelder: Freiherr von Gise, Hardo, Dr. med.  
Schwärzlocher Strasse 110  
D-7400 Tübingen(DE)

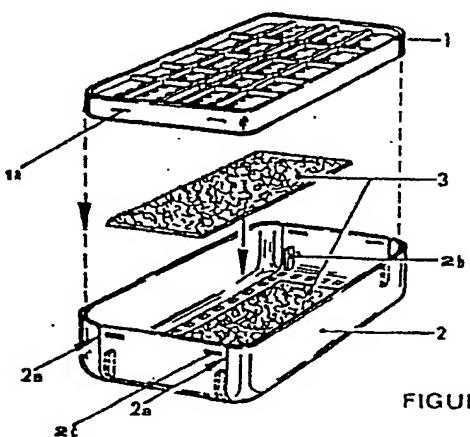
(84) Benannte Vertragsstaaten:  
DE FR GB SE

(72) Erfinder: Freiherr von Gise, Hardo, Dr. med.  
Schwärzlocher Strasse 110  
D-7400 Tübingen(DE)

(54) Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin zur Verwendung in automatisch arbeitenden Inkubations- und Aufblockeinrichtungen.

(57) Die Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin, gekennzeichnet durch die Verwendbarkeit in automatisch arbeitenden Infiltrations- und Ausblockeinrichtungen, besteht aus einem perforierten Aufblockrahmen (1) und einer bodenseitig perforierten Außenwanne (2), die Sollbruchlinien (2a) zum Aufreißen und Widerlager (2b) gegen zu tiefes Einrasten des Aufblockrahmens (1) aufweist, wobei dieser durch die Wülste (1a), die in die Perforationen (2c) der Außenwanne (2) eingreifen, in der Außenwanne (2) verankert ist, damit ein ungewolltes Öffnen vermieden wird. In einem alternativen Einbettungs- und Aufblockverfahren wird eine Inkubationskapsel mit einer Außenwanne (7) eingesetzt, die keine bodenseitigen Perforationen besitzt und an der Bodenunterseite über mehrere in eine Richtung verlaufende Abstandsstege verfügt, die bei enger Schichtung der Inkubationskapseln als Abstandshalter zur nächsten Inkubationskapsel dienen.

Die Inkubationskapseln kommen bis zum Abschluß des Infiltrationsprozesses des biologischen Gewebes in einer hochkanten Ausrichtung zum Einsatz und werden vor der Erstarrung des Paraffins in eine waagerechte Lage zurückversetzt, die ein Abfließen des Paraffins aus der Außenwanne (7) verhindert, wenn das Paraffin aus der Inkubationskammer selbst entleert wird.



FIGUR 1

Die Erfindung bezieht sich auf eine Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin, die sich vom Stand der Technik dadurch unterscheidet, daß am Ende des Einbettungsprozesses nach der Infiltration des Präparates mit Paraffin die fertig aufgeblockten und sofort mit einem Mikrotom schneidbaren Präparate entnommen werden können.

Für die lichtmikroskopische Untersuchung von biologischen Proben ist es notwendig, diese in einen schneidfähigen Zustand zu bringen. Als Routineverfahren hat sich die Einbettung des Gewebes in Paraffin durchgesetzt. Das biologische Gewebe wird hierzu durch Aldehydlösungen fixiert und stufenweise über Alkohol oder Aceton entwässert und über eine Zwischenstufe mit einem Intermedium (organisches Lösungsmittel) in flüssiges heißes Paraffin überführt. Bei allen auf dem Weltmarkt befindlichen Halbautomaten wird das Gewebe dann im heißen und paraffininfiltierten Zustand aus der Inkubationskammer entnommen und muß in einem manuellen Verfahren dann aufgeblockt werden, damit es nach der Erstarrung des Paraffins dann für den Schneidevorgang in die Halterung eines Mikrotomes eingespannt werden kann. Oblicherweise werden die biologischen Präparate für die Einbettungsprozedur in Präparatekapseln gebracht, die gekennzeichnet werden können und eine spätere Identifizierung ermöglichen. Derartige Präparatekapseln besitzen perforierte Wände, um eine ungehinderte Infiltration des Gewebes mit den Inkubationslösungen zu ermöglichen. Die herkömmlichen Halbautomaten für die Gewebeinbettung besitzen Inkubationskammern, die nach dem Prinzip eines einfachen Kochtopfes arbeiten, der über einen Reagenzienversorgungsteil wahlweise mit Reagenzien gefüllt werden kann. Die Präparatekapseln mit den biologischen Proben werden lose oder in Körben in diese Inkubationskammern eingebracht.

Zur Automatisierung des Prozesses wäre es wünschenswert, wenn die Präparate in speziellen Kapseln und im erstarrten Zustand des Paraffins aus der Inkubationskammer herausgenommen werden könnten, sodaß die Präparate nach der Herauslösung aus den Kapseln sofort mit einem Mikrotom geschnitten werden könnten, ohne daß eine nachfolgende manuelle Aufblockung derselben notwendig ist. Mit keiner der auf dem Markt befindlichen Inkubationskapseln wäre es möglich ein derartiges Verfahren zu realisieren.

Hier will die Erfindung Abhilfe schaffen. Die Erfindung, wie sie in den Ansprüchen gekennzeichnet ist, löst die Aufgabe, eine Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin zur Verwendung in automatischen Inkubationseinrichtungen zu schaffen, durch die konstruktiven Merkmale der in den Zeichnungen dargestellten Inkubationskapsel, bestehend aus einem Aufblockrahmen und einer Außenwanne, in die der Aufblockrahmen eingerastet wird. Der Aufblockrahmen weist ebenso wie die Außenwanne eine Vielzahl von Durchbrüchen auf, die einen ungehinderten Austausch der internen Flüssigkeit mit der umgebenden Flüssigkeit gewährleisten, wodurch Konzentrationsgradienten, die eine Infiltration des in der Kapsel befindlichen biologischen Gewebes beeinträchtigen würden schnell abgebaut werden. Der Aufblockrahmen ist durch Längs- und Querstrebene mechanisch stabilisiert, damit er den speziellen Klemmvorrichtungen der Mikrotome standhält und das aufgeblockte Präparat für den Schneidevorgang bewegungsfrei montiert werden kann. Die Außenwanne besitzt Perforationslinien entlang derer die Außenwanne nach dem Füllen der Inkubationskapsel mit Paraffin und der Erstarrung des Paraffins eingerissen und von dem Paraffinblock abgelöst werden kann. Während des Entwässerungs- und Infiltrationsprozesses werden die so gestalteten Inkubationskapseln schichtweise übereinander in einer Inkubationskammer gelagert, aus der sie nach Abschluß des Infiltrationsprozesses im erstarrten Zustand des Paraffins wieder herausgelöst werden. Für diesen Vorgang ist eine spezielle Ausgestaltung der Inkubationskammer nötig wie sie in einer parallelen Patentanmeldung des gleichen Anmelders dargestellt wird.

Die durch die Erfindung erreichten Vorteile sind im wesentlichen darin zu sehen, daß bei Verwendung dieser Kapseln in automatischen Inkubationseinrichtungen die arbeitsaufwendige manuelle Aufblockung der Präparate nach der Infiltration mit heißem Paraffin entfällt, wobei wiederum die Gefahr einer Beschädigung derselben oder eine Verwechslung vermieden wird. Darüber hinaus ermöglicht die Konstruktion der Inkubationskapsel erstmalig die Automatisierung des Einbettungsprozesses bis zum fertigen aufgeblockten biologischen Präparat, was mit keiner der auf dem Weltmarkt befindlichen Inkubationskapseln möglich wäre! Ein weiterer Vorteil der Erfindung liegt darin, daß die Präparate in einem gekühlten und sofort schneidfähigen Zustand entnommen werden können. Durch die Erfindung können darüber hinaus die Kosten einer Paraffinausgießstation eingespart werden.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von nur zwei Ausführungswege darstellenden Zeichnungen näher erläutert.

Es zeigt: Figur 1 den Aufbau der aus einem beschriftbaren Ausblockrahmen und einer aufreibbaren Außenwanne bestehenden Inkubationskapsel, in die das biologische Gewebe für den Einbettungsprozeß in Paraffin eingelegt wird.

Figur 2 den Vorgang des Abreißens der Außenwanne von dem in der Inkubationskapsel erstarrten Paraffin entlang der Perforationslinien.

Figur 3 den Aufblockrahmen mit dem erstarrten Paraffin und dem darin befindlichen biologischen Gewebe in einer schematisierten Klemmvorrichtung eines Mikrotomes und den Schneidevorgang.

Figur 4 eine Modifikation

der Außenwanne ohne bodenseitige Perforationen, die in einen abgewandelten Verfahren als Ausblockwanne dient.

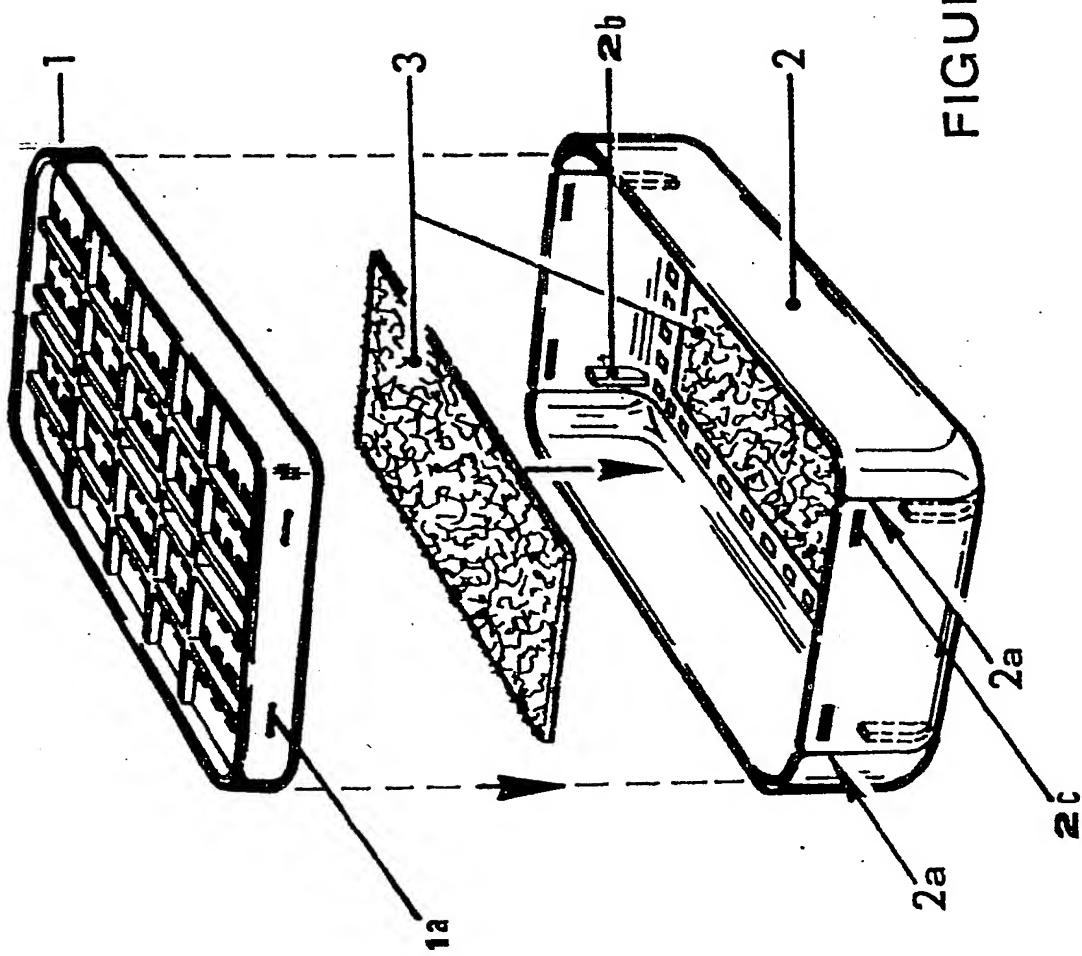
In den Figuren ist eine Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin zur Verwendung in automatischen Inkubationseinrichtungen dargestellt, welche in ihrem grundsätzlichen Aufbau einerseits aus einem Aufblockrahmen 1 mit Längs- und Querverstrebungen und einer Vielzahl von Durchbrüchen und andererseits aus einer Außenwanne 2 mit zwei längs verlaufenden Sollbruchlinien 2a und vielfach perforiertem Boden besteht. Der Aufblockrahmen 1 dient als Deckel der Inkubationskapsel und liegt im eingerasteten Zustand auf den Widerlagern 2b der Außenwanne auf. Die Wülste 1a verankern den Aufblockrahmen 1 in den Perforationen 2c der Außenwanne 2 und verhindern so ein ungewolltes Öffnen der Inkubationskapsel sowie den Verlust des darin befindlichen biologischen Gewebes 3. Die derart gestalteten Inkubationskapseln werden schichtweise übereinander in einer speziell gestalteten Inkubationskammer, die Gegenstand einer getrennten Anmeldung ist, für den Einbettungsprozeß gelagert und am Ende des Prozesses aus dieser mit erstarrtem Paraffin wieder entnommen. Nach der Abschälung der Außenwanne 2 von dem in der Inkubationskapsel erstarrten Paraffin 4 mit dem paraffininfiltierten biologischen Gewebe 3, gemäß in Figur 2 dargestellter Weise, wird das so aufgeblockte Präparat in die schematisch dargestellte Klemmvorrichtung 5 eines Mikrotomes eingespannt und kann mittels des schematisch dargestellten Messers 6 sofort geschnitten werden.

Die in Figur 4 dargestellte Modifikation der Außenwanne 7 kommt in Verbindung mit dem Aufblockrahmen 1 in einem abgewandelten Aufblockverfahren zur Anwendung. Bei diesem Verfahren werden die Inkubationskapseln in der Inkubationskammer in speziellen Rahmen derart befestigt, daß sie um einen Winkel von 90° gekippt werden können. Während des Entwässerungs- und Infiltrationsprozesses werden die Inkubationskapseln hochkant gestellt, so daß beim Füllen der Inkubationskammer, in der sich die Inkubationskapseln befinden, die Reagenzien ungehindert in die Inkubationskapseln einfließen oder abfließen können. Nach Abschluß des Infiltrationsprozesses werden die Inkubationskapseln dann in ihre Ausgangslage zurückgeklappt, so daß das heiße Paraffin beim Entleeren der Inkubationskammer nicht aus den Inkubationskapseln ablaufen kann und bei dem dann eingeleiteten Abkühlungsprozeß in den Inkubationskapseln erstarrt und das auf dem Wannenboden liegende biologische Gewebe mit dem Aufblockrahmen verbindet. Die Außenwanne 7 kann mit Sollbruchlinien wie Außenwanne 2 versehen werden, die das Ablösen vom Paraffinblock erleichtern. Alternativ können alle Innenwände der Außenwanne 7 so stark abgeschrägt und abgerundet werden, daß der erstarrte Paraffinblock ohne Beschädigung aus der Wanne gelöst werden kann. Durch eine Teflonbeschichtung kann die Entformbarkeit weiter verbessert werden. Die Einkerbung 7a der Außenwanne 7 erleichtert durch die Ansetzbarkeit eines Werkzeuges die Trennung zwischen Aufblockrahmen 1 mit dem anhängenden Paraffinblock und der Außenwanne 7 selbst.

## Patentansprüche

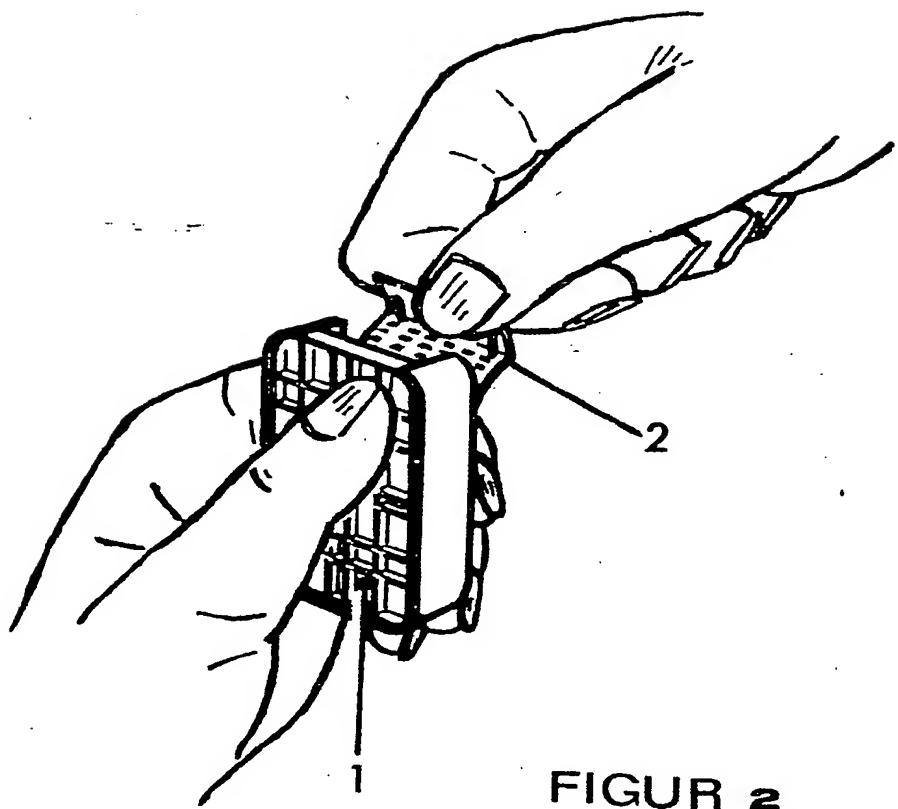
- 0 1. Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin, gekennzeichnet durch die Verwendbarkeit in automatisch arbeitenden Infiltrations- und Ausblockeinrichtungen, bestehend aus einem perforierten Aufblockrahmen (1) und einer bodenseitig perforierten Außenwanne (2), die Sollbruchlinien (2a) zum Aufreißen und Widerlager (2b) gegen zu tiefe Einrasten des Aufblockrahmens (1) aufweist, wobei dieser durch die Wülste (1a), die in die Perforationen (2c) der Außenwanne (2) eingreifen, in der Außenwanne (2) verankert ist, damit ein ungewolltes Öffnen vermieden wird, wodurch das in der Inkubationskapsel befindliche biologische Gewebe (3) verloren gehen könnte.
- 5 2. Inkubationskapsel für die Einbettung biologischer Präparate in Paraffin, gekennzeichnet durch die Verwendbarkeit in automatisch arbeitenden Infiltrations- und Ausblockeinrichtungen, bestehend aus einem Aufblockrahmen (1) und einer Außenwanne (7), die keine bodenseitigen Perforationen besitzt und an der Bodenunterseite über mehrere in eine Richtung verlaufende Abstandsstege verfügt, die bei enger Schichtung der Inkubationskapseln als Abstandshalter zur nächsten Inkubationskapsel dienen und eine ungehinderte Zirkulation der um die Kapseln herum befindlichen Flüssigkeit gewährleisten, wobei die Inkubationskapseln bis zum Abschluß des Infiltrationsprozesses des biologischen Gewebes in einer hochkanten Ausrichtung zum Einsatz kommen und vor der Erstarrung des Paraffins in eine waagerechte Lage zurückgesetzt werden, die ein Abfließen des Paraffins aus der Außenwanne (7) verhindert, wenn das Paraffin aus der Inkubationskammer selbst entleert wird.
- 10 3. Verfahren zur Einbettung und Aufblockung biologischer Präparate in Paraffin, gekennzeichnet durch eine automatische und ohne jegliche manuellen Eingriffe erfolgende Aufblockung der biologischen Präparate durch Abkühlung des in speziell ausgestalteten Inkubationskapseln befindlichen Paraffins mit nachträglicher Ablösung von Teilen der Inkubationskapsel.
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35

FIGUR 1



2/4

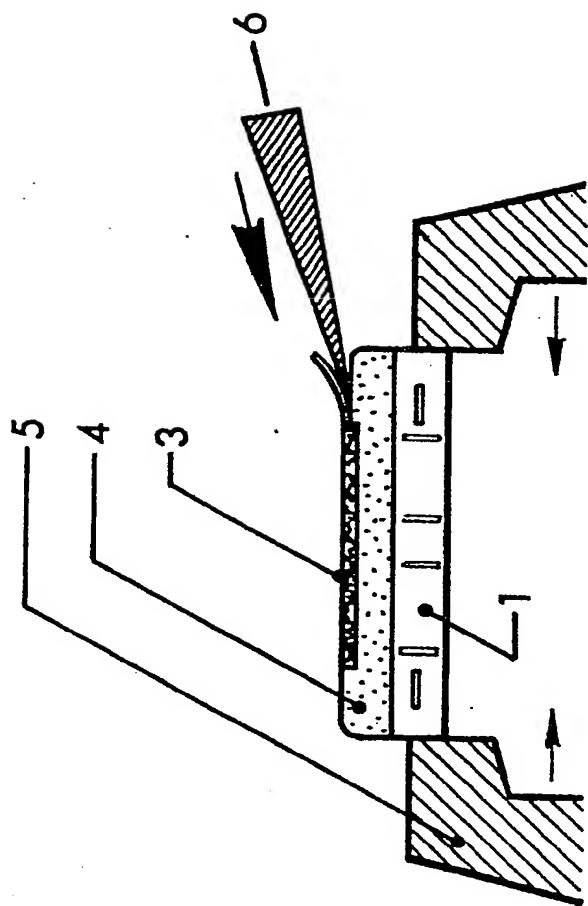
0142575



FIGUR 2

0142575

3/4

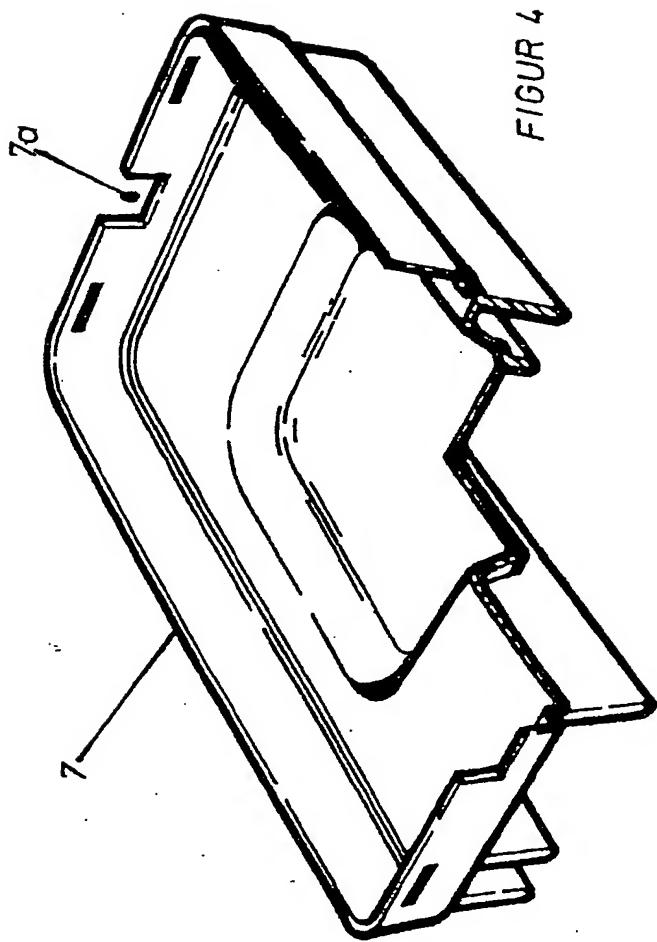


FIGUR 3

4/4

0142575

FIGUR 4





Europäisches  
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0142575  
Nummer der Anmeldung

EP 83 11 1656

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 3)
A	DE-A-1 767 660 (TRIANGLE BIOMEDICAL EQUIPMENT) * Seite 24, Zeile 23 - Seite 30, Zeile 12; Figuren 12-20 *	1	G 01 N 1/28
A	US-A-3 982 862 (J.E.P. PICKETT et al.) * Spalte 8, Zeile 21 - Spalte 9, Zeile 3; Figuren 1-11 *	1	
A	US-A-3 554 433 (M.L. CARDENAZ) * Spalte 4, Zeilen 11-42; Figur 6	1	
A	US-A-4 034 884 (F.K. WHITE) * Spalte 4, Zeilen 34-63; Figuren 1,3,4 *	1	
	-----		RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int. Cl. 3)
			G 01 N 1/00

Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.

Recherchenort  
DEN HAAG

Abschlußdatum der Recherche  
10-07-1984

Prüfer  
ANTHONY R.G.

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN

X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet  
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer  
anderen Veröffentlichung derselben Kategorie  
A : technologischer Hintergrund  
O : nüchternschriftliche Offenbarung  
P : Zwischenliteratur  
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze

E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder  
nach dem Anmelde datum veröffentlicht worden ist  
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument  
L : aus andern Gründen angeführtes Dokument

& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument